

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE AUSSCHIEDUNG
VON TRYPTOPHAN UND TRYPTOPHYNMETABOLITEN
BEI LEBERERKRANKUNGEN

von

Dietrich Ekkehard Bose

1966



Aus der II. Medizinischen Klinik der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. P. Schölmerich

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE AUSSCHIEDUNG
VON TRYPTOPHAN UND TRYPTOPHANMETABOLITEN
BEI LEBERERKRANKUNGEN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Hohen Medizinischen Fakultät der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Dietrich Ekkehard Bose

aus Erfurt

MAINZ 1966

Dekan: Professor Dr. Borneff
Referent: Priv. Doz. Dr. W. Gerok
Korreferent: Professor Dr. P. Schölmerich
Tag der mündl. Prüfung: 21. Juli 1966



Gesamtherstellung: Ditters Bürodienst Mainz

INHALT

I. EINLEITUNG

1. Biochemie des Tryptophanabbaues
2. Fragestellung der eigenen Untersuchungen

II. METHODIK

1. Bestimmung der Gesamt-Indole und des Tryptophans
2. Papierchromatographie und quantitative Bestimmung von Kynurenin, Anthranilsäure und 3-Hydroxy-Anthranilsäure
3. Bestimmung der Xanthurensäure
4. Schätzung des Bestimmungsfehlers

III. ERGEBNISSE

1. Gesunde Kontrollpersonen
2. Akute Hepatitis
3. Chronische Hepatitis
4. Lebercirrhose

IV. DISKUSSION

V. ZUSAMMENFASSUNG

VI. LITERATUR



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554419_0015

I. EINLEITUNG

Im Aminosäurenstoffwechsel nimmt die Leber eine zentrale Stellung ein. Die Aminosäuren gelangen nach der Resorption aus dem Darm über die Pfortader direkt in die Leber oder werden von anderen Organen (Muskulatur, Niere) der Leber zugeführt. Ferner werden Aminosäuren in der Leber selbst gebildet.

Die Leber enthält sowohl die für die Proteinsynthese wichtigen Enzyme, als auch Enzyme des Aminosäurenabbaues in hoher Aktivität. Beim Aminosäurenabbau entstehen durch Transaminierung oder Desaminierung die entsprechenden Ketosäuren, die Metabolite des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels sind oder in diese durch weitere Stoffwechselreaktionen übergeführt werden können. Auf diesen Stoffwechselwegen der Aminosäuren beruht letztlich die Verknüpfung von Proteinstoffwechsel einerseits, Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel andererseits. Neben diesen Hauptwegen des Aminosäurenstoffwechsels gibt es für einige Aminosäuren besondere Abbauewege mit spezifischen Enzymen, z. B. für die Aminosäuren Histidin, Methionin, Tryptophan u. a. Auch die Endstufe des N-Stoffwechsels, die Synthese von Harnstoff, vollzieht sich vorwiegend in der Leber.

Auf Grund dieser besonderen Stellung der Leber im Aminosäurenstoffwechsel war es naheliegend, zu prüfen, ob bei Erkrankungen der Leber Störungen im Aminosäurenstoffwechsel auftreten. Besonders bei Aminosäuren mit spezifischem Abbaueweg, der vorwiegend oder ausschließlich in der Leber lokalisiert ist, waren derartige Störungen zu erwarten. Sie sind bisher bei folgenden Aminosäuren nachgewiesen worden:

1. Methioninstoffwechsel. SCHREIER und SCHÖNSEE stellten fest, daß nach peroraler Methioningabe bei Leberkranken der Methioninspiegel im Blut und die Methioninausscheidung im Urin länger und stärker erhöht sind als bei Gesunden. Bei schweren Lebererkrankungen treten Oxydationsprodukte des Methionins im Serum auf (Methioninsulfoxyd und Methioninsulfonsäure) (GEROK). Neuere Untersuchungen zeigten ferner, daß bei Lebercirrhose Methionin vermehrt zu α -Aminobuttersäure unter Bildung des toxischen Methylmercaptans abgebaut wird (GEROK).

2. Histidinstoffwechsel. BAUR und WILMES fanden, daß die Histidinausscheidung bei Gesunden durch perorale Zufuhr von 5 g L-Histidin keine signifikante Änderung erfährt. Bei Kranken mit Hepatitis und Lebercirrhose wurde hingegen unter der Histidinbelastung eine Zunahme der Histidinausscheidung beobachtet. Leberkranke zeigten unter Belastung eine signifikant höhere Ausscheidung als Gesunde. Diese Befunde gaben Hinweise auf eine Störung des Histidinstoffwechsels bei Lebererkrankungen. In neueren Untersuchungen wurde die Störung im spezifischen Abbauweg des Histidins näher lokalisiert; es wurde nachgewiesen, daß die Umwandlung von Formiminoglutaminsäure in Glutaminsäure gehemmt ist (BORNHÄUSER).
3. Harnstoffsynthese. Nach Argininbelastung ist bei Kranken mit Lebercirrhose und - weniger ausgeprägt - auch bei Kranken mit akuter Hepatitis die Citrullinkonzentration im Serum gegenüber Gesunden signifikant erhöht, während die Serumkonzentrationen der beiden anderen am Harnstoffcyklus beteiligten Aminosäuren Arginin und Ornithin im Vergleich zu Gesunden keine signifikanten Veränderungen aufweisen. Die Zunahme von Citrullin ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die Umwandlung von Citrullin in Arginin limitierende Reaktion im Harnstoffcyklus und bei Lebercirrhose zuerst gestört ist (GEROK ; HOCHMILLER).

In der vorliegenden Arbeit wird über Untersuchungen zum Tryptophanstoffwechsel bei Lebererkrankungen berichtet. Für Tryptophan besteht ein spezifischer Hauptabbauweg, dessen Enzyme in hoher Aktivität in der Leber vorhanden sind. Es erschien deshalb aufschlußreich, zu prüfen, ob eine oder mehrere Stoffwechselreaktionen des Tryptophanabbaues im Verlauf von Lebererkrankungen gestört sind.

1. Biochemie des Tryptophanabbaues

a) Abbau über Kynurenin zu Nikotinsäure.

Der Hauptabbauweg des Tryptophans (Abb. 1) führt zur Nikotinsäure. Der erste Schritt ist nicht wie beim Abbau der meisten Aminosäuren eine Desaminierung, sondern eine Öffnung des Indolringes mit Hilfe des Enzyms Tryptophanperoxydase in Gegenwart von Sauerstoff und Wasserstoffsuperoxyd (KNOX und MEHLER; MEHLER und KNOX; KNOX). Das Enzym ist in Leberextrakten nachweisbar und kann sich "adaptativ" dem Substratangebot angleichen (KNOX und MEHLER).

Seine Synthese wird wahrscheinlich durch Hypophysen- und Nebennierenrindenhormone beeinflusst (KNOX und AUERBACH; GESCHWIND und LI; LEE und WILLIAMS). - Der zweite Schritt ist die Hydrolyse des entstandenen Formylkynurenins zu Kynurenin. Die Abspaltung der C_1 -Einheit (Formiat) bewirkt das Enzym Kynureninformamidase, das ebenfalls in der Leber vorkommt (KNOX und MEHLER; MEHLER und KNOX). - Es folgt als dritter Schritt die Oxydation von Kynurenin zu 3-Hydroxykynurenin. An dieser Reaktion ist Riboflavin beteiligt (CHARCONNET-HARDING und Mitarbeiter; MASON; HENDERSON und Mitarbeiter), Phosphorylierungsvorgänge sind für die Oxydation wahrscheinlich von Bedeutung. - Auf der vierten Stufe des Abbaus wird von 3-Hydroxykynurenin Alanin abgespalten, wobei 3-Hydroxy-Anthranilsäure entsteht. Das erforderliche Enzym, Kynureninase, kommt in Leber und Niere vor und benötigt Pyridoxalphosphat (Vitamin B_6) als Coenzym. Es ist bemerkenswert, daß das Enzym analog zu 3-Hydroxykynurenin auch von Kynurenin den Alaninrest abspaltet, wobei Anthranilsäure gebildet wird (WISS und FUCHS; WISS und HATZ; WISS; KOTAKE; KNOX; JAKOBY und BONNER). - Aus 3-Hydroxy-Anthranilsäure wird dann in mehreren noch nicht vollständig identifizierten Reaktionen Nikotinsäure gebildet (Diskussion der bisherigen Ergebnisse siehe MEISTER). Damit steht in Einklang, daß bei Ratten mit einem Mangel am Vitamin Nikotinsäure durch Tryptophanzufuhr ein normales Wachstum erzielt werden kann (KREHL und Mitarbeiter). Versteht man unter Vitaminen Substanzen, die für den Organismus unentbehrlich sind, weil sie von ihm nicht synthetisiert werden können, so ist Nikotinsäure kein Vitamin im Sinne dieser strengen Definition.

Eine Abzweigung von dem geschilderten Hauptabbauweg des Tryptophans führt zur Kynurensäure und Xanthurensäure. Diese Substanzen entstehen aus Kynurenin bzw. 3-Hydroxykynurenin, wobei zunächst durch eine Transaminierung die α -Aminogruppe abgespalten wird, und dann spontan der Ringschluß erfolgt. (MILLER und Mitarbeiter; DALGLIESH und Mitarbeiter; MASON und BERG; WISS).

b) **Bildung von Serotonin.**

Ein zweiter Stoffwechselweg des Tryptophans führt zum Hormon Serotonin. Die limitierende Reaktion ist hierbei die Oxydation in Stellung fünf am Indolring. Es entsteht 5-Hydroxytryptophan und daraus durch Decarboxylierung Serotonin. Dieser Stoffwechselweg ist quantitativ von untergeordneter Bedeutung, da die 5-Hydroxylierung nur in den gelben (chromaffinen, argentaffinen) Zellen möglich ist (UDENFRIEND und Mitarbeiter; CLARK und Mitarbeiter; RAPPORT und Mitarbeiter). Die Enzyme für die Decarboxylierung des 5-Hydroxytryptophans zu Serotonin und für die Oxydation des Serotonins (Decarboxylase und Aminoxydase) sind hingegen weit verbreitet. Bekanntlich ist im typischen Carcinoid die Serotoninbildung gesteigert, und die Mehrproduktion des Hormons verursacht die Symptome der Carcinoidkranken (WALDENSTRÖM und LJUNGBERG; LEMBECK; ISLER und HEDINGER).

c) **Decarboxylierung zu Tryptamin und andere Abbaewege des Tryptophans.**
Die Decarboxylierung des Tryptophans ist quantitativ von geringer Bedeutung. Die bei Pflanzen nachgewiesene Bildung der tryptophananalogen Ketosäure (Indolbrenztraubensäure) ist beim Menschen gering oder fehlt völlig.

Im Darm entstehen aus Tryptophan unter der Einwirkung von Bakterien verschiedene Indolderivate: Indikan, Skatol, Skatoxyl, Indolessigsäure (Übersicht siehe RESSEL).

2. Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit wird bei Gesunden und Leberkranken der Hauptabbauweg des Tryptophans zu Nikotinsäure untersucht. Nach peroraler Gabe von 10 g L-Tryptophan werden im 24-Stunden-Urin Tryptophan, Gesamtindole, Kynurenin, Anthranilsäure, 3-Hydroxy-Anthranilsäure und Xanthurensäure bestimmt. Die "Belastung" mit Tryptophan wurde durchgeführt, weil die Ausscheidung einiger Metaboliten ohne Tryptophangabe außerordentlich gering ist und sich deshalb einer genauen quantitativen Bestimmung entzieht. Außerdem wird durch die Belastung - wie andere Untersuchungen zum Aminosäurenstoffwechsel der Leber ergaben - die "funktionelle Reserve" des Organs voll beansprucht.

Die Untersuchungen wurden bei Gesunden, sowie bei Kranken mit akuter Hepatitis, chronischer Hepatitis und Lebercirrhose ausgeführt. Es sollte geklärt werden, ob bei diesen Lebererkrankungen die Ausscheidung von Tryptophan und Tryptophanmetaboliten im Vergleich zu Gesunden signifikant verändert ist und sich daraus Rückschlüsse auf gestörte Reaktionen im Tryptophan-Stoffwechsel bei Lebererkrankungen ergeben.

II. METHODIK

Die Versuchspersonen erhielten morgens in etwas Apfelbrei 10 g L-Tryptophan. Vorversuche hatten ergeben, daß der Eiweißgehalt der Nahrung die Ausscheidung von Tryptophan und Tryptophanmetaboliten nicht beeinflußt. Eine besondere Kostform wurde deshalb von den untersuchten Personen am Versuchstag nicht eingehalten. Die Leberkranken (akute Hepatitis, chronische Hepatitis, Cirrhose) erhielten etwa 80 g Protein pro Tag. Für die Dauer des Versuches wurden alle Medikamente abgesetzt.

Am Tag der Tryptophangabe wurde der Urin von morgens 8 Uhr bis zum folgenden Tage morgens 8 Uhr gesammelt (24-Stunden-Sammelurin). Während der Sammelperiode wurde der Urin kühl aufbewahrt. Konservierungsmittel wurden nicht zugesetzt. Vorversuche hatten ergeben, daß die Ausscheidung von Tryptophan und Gesamtindolen nur im 24-Stunden-Urin direkt nach Tryptophangabe erhöht ist und bereits am folgenden Tag den Ausscheidungswert vor der Tryptophangabe wieder erreicht.

1. Bestimmung der Gesamt-Indole und des Tryptophans

Die Bestimmung der ausgeschiedenen Gesamtindole und des Tryptophans erfolgte nach der Methode von SPIES und CHAMBERS. Tryptophan und andere Indolderivate ergeben mit p-Dimethylaminobenzaldehyd im stark alkalischen Milieu ein farbloses Produkt, das durch Oxydation mit Natriumnitrit in eine blauviolette Verbindung übergeführt wird. Störende Chlor- und Nitritionen, die die Bildung des farblosen Kupplungsproduktes verhindern, müssen vor der Farbreaktion durch 30 Minuten langes Ausschüteln des Urines mit 1 g Silbersulfat entfernt werden (SPIES). Von den Ge-

samtindolderivaten können die "Nicht-Tryptophan-Indole" durch Ätherreaktion entfernt werden (ALBANESE und FRANKSTON). Es wurden somit im mit Silbersulfat vorbehandelten Urin bestimmt:

- a) durch direkte Farbreaktion: Gesamtindole
- b) durch Farbreaktion nach Ätherextraktion: Tryptophan
- c) durch Differenz von a) und b): "Nicht-Tryptophan-Indole".

Durchführung:

2 ml des gefilterten Urins wurden mit 8 ml destilliertem Wasser gemischt, mit 1 g Silbersulfat 30 Minuten lang ausgeschüttelt, anschließend zentrifugiert und erneut filtriert. Vom Filtrat wurden 3 ml in graduierte Reagenzgläser abpipettiert, und hierzu 0,5 ml einer 25 %igen Schwefelsäure zugegeben. Zur Entfernung der "Nicht-Tryptophan-Indole" wurden 3 mal je 2 Minuten lang mit 5 ml Äthyläther ausgeschüttelt, und der überstehende Äther jeweils anschließend abgesaugt. Die ätherextrahierte Lösung wurde mit Wasser auf ein Gesamtvolumen von 10 ml aufgefüllt. Von dieser Lösung wurde zur colorimetrischen Bestimmung nach SPIES und CHAMBERS je 1 ml eingesetzt. An den Urinproben ohne und mit Ätherextraktion wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt. Als Bezugswert und Kontrolle wurde bei jeder Meßreihe ein Testwert mit 0,02 mg Tryptophan/ml analysiert.

Die Prüfung der Farbreaktion mit Tryptophantestlösungen abgestufter Konzentration ergab, daß zwischen Extinktion und eingesetzter Tryptophanmenge im Bereich von 0,004 - 0,020 mg Tryptophan eine lineare Beziehung besteht (Abb. 2), gleichfalls zeigte sich diese lineare Beziehung bei der Farbreaktion mit abgestuften Mengen des Urins einer gesunden Versuchsperson, die 10 g L-Tryptophan peroral erhielt (Abb. 3). Der methodische Fehler betrug $\pm 1,2\%$ des arithmetischen Mittelwertes bei Bestimmung der Gesamtindole, $\pm 1,7\%$ des arithmetischen Mittelwertes bei Bestimmung von Tryptophan.

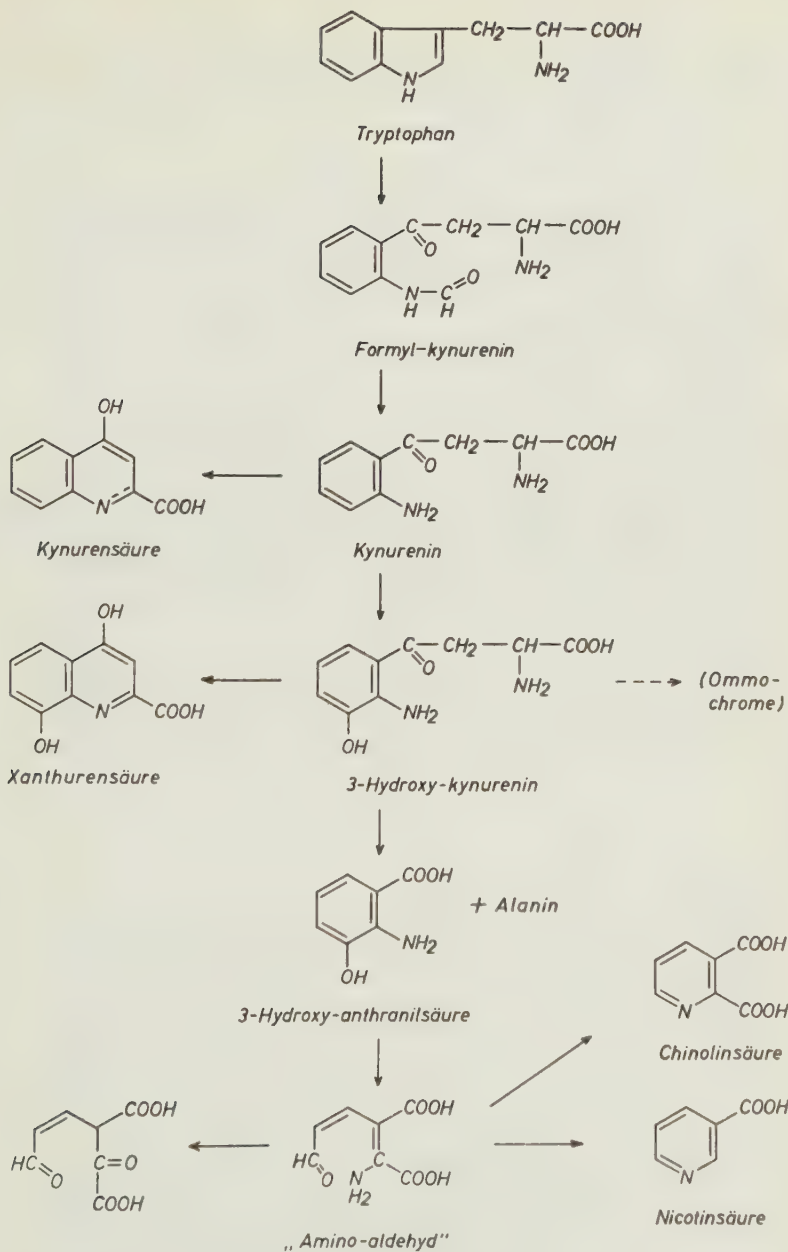


Abb. 1: Abbau des Tryptophans zu Nikotinsäure
 (aus KARLSON, Biochemie, G.Thieme-Verlag)

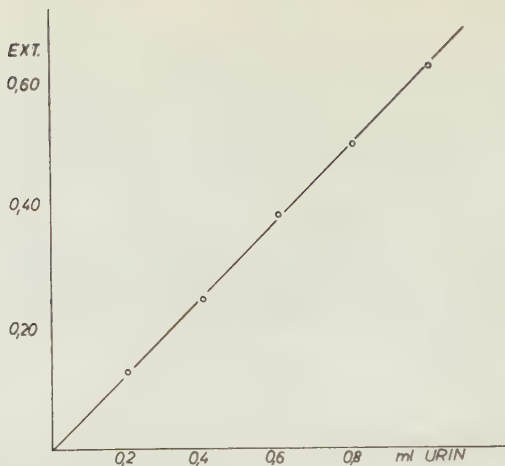


Abb. 2: Lineare Beziehung zwischen Extinktion (Ordinate) und eingesetzter Tryptophanmenge (Abszisse) bei der photometrischen Bestimmung des Tryptophans nach SPIES und CHAMBERS.

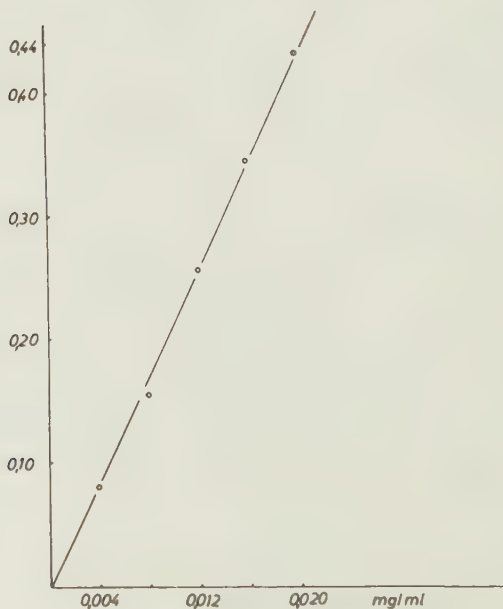


Abb. 3: Tryptophanbestimmung an abgestuften Mengen des Urins einer gesunden Versuchsperson nach peroraler Gabe von 10 g Tryptophan. Lineare Beziehung zwischen Extinktion und eingesetzter Versuchsmenge.

2. Papierchromatographie und quantitative Bestimmung von Kynurenin, Anthranilsäure und 3-Hydroxy-Anthranilsäure

a) Papierchromatographie:

Zur quantitativen Bestimmung der drei genannten Tryptophanmetabolite wurde der Urin in Anlehnung an COPPINI und Mitarbeiter 1-dimensional mit Butanol-Essigsäure-Wasser (4 : 1 : 5) auf Whatmanpapier Nr. 1 chromatographiert. Für die quantitative Auswertung von Papierchromatogrammen ist es notwendig, nur 1-dimensional zu chromatographieren, da nur bei 1-dimensionaler Chromatographie auf dem Chromatogramm neben der Probe Testlösungen eingesetzt und unter gleichen Bedingungen wie die Probe analysiert werden können. Fehler durch Substanzverluste bei der chromatographischen Wanderung (KOFRANYI; GEROK) können dadurch eliminiert werden. Der Nachteil der Chromatographie in nur einer Dimension ist die unvollständige Trennung von 3-Hydroxy-Anthranilsäure und Anthranilsäure. Dieser Nachteil wird durch die Anwendung von zwei verschiedenen Farbreaktionen am ausgeschnittenen Fleck ausgeglichen. Die Reaktion nach BRATTON und MARSHALL (siehe unter b) ergibt einen Azofarbstoff mit Anthranilsäure, die Farbreaktion mit p-Monochloranilin (siehe unter c) beruht auf der Anwesenheit von 3-Hydroxy-Anthranilsäure.

Durchführung:

4 ml des filtrierten Urins wurden nach Zusatz von 0,4 ml 10 n Salzsäure 60 Minuten bei 120°C zur Hydrolyse am Rückflußkühler gekocht. Tryptophanmetabolite mit N-Acetylierung oder in Glucuronidbindung werden durch Hydrolyse freigesetzt. Der hydrolysierte Urin wurde anschließend filtriert. Vom Filtrat wurden 2,0 ml im Vakuum-Rotationsverdampfer zur Trockene eingengt; der Rückstand wurde in 1,0 ml Wasser gelöst, hiervon wurden 0,05 ml - entsprechend 0,1 ml Urin - zur Chromatographie in Butanol-Essigsäure-Wasser (4 : 1 : 5 Vol. Teile) aufgetragen. Die Lokalisation der zu untersuchenden Substanzen erfolgte auf dem getrockneten Chromatogramm im UV-Licht. Die R_f-Werte für Kynurenin, Anthranilsäure und 3-Hydroxy-Anthranilsäure stimmen mit den von COPPINI und Mitarbeiter, sowie DALGLIESH angegebenen Werten überein (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1:

Rf-Werte von Tryptophanmetaboliten (siehe Text)

Rf-Werte	COPPINI und Mitarbeiter	DALGLIESH	eigene Werte
Kynurenin	0,37	0,37	0,35/0,40
Anthranilsäure	0,88	0,90	0,88
3-Hydroxy- Anthranilsäure	0,85	0,84	0,84

Die Flecken wurden im UV-Licht umrandet, anschließend ausgeschnitten und zur Farbreaktion extrahiert.

b) Bestimmung von Anthranilsäure und Kynurenin:

Anthranilsäure und Kynurenin wurden nach der chromatographischen Trennung mit der Farbreaktion nach BRATTON und MARSHALL bestimmt. Die Methode beruht darauf, daß Kynurenin und Anthranilsäure mit N-(1-Naphthyl)-äthylendiamin unter Zusatz von Salzsäure, Natriumnitrit und Ammoniumsulfamidat einen Azofarbstoff ergeben, der eine photometrische Bestimmung der beiden Tryptophanmetaboliten ermöglicht.

Durchführung:

Die im UV-Licht lokalisierten Kynurenin- und Anthranilsäureflecken wurden ausgeschnitten und in 2 mm breite Streifen zerkleinert. Sämtliche Streifen eines Fleckes wurden zur Elution 16 - 20 Stunden bei 37°C mit 2,5 ml Wasser inkubiert. Anschließend wurden jeweils 0,2 ml einer 10 n Salzsäure und 1 ml 0,1 %ige Natriumnitritlösung zugegeben. Nach 5 Minuten Reaktionszeit bei Zimmertemperatur wurden 1 ml 0,5 %ige Ammoniumsulfamidatlösung und nach weiteren 5 Minuten 1 ml 0,1 %ige Diaminlösung hinzugefügt. Nach 2 Stunden Reaktionsdauer wurde die Extinktion bei 540 m μ (Photometer ZEISS ELKO III, Filter S54) gemessen.

Zur Prüfung wurde die Farbreaktion an Testlösungen abgestufter Konzentration (1 - 4 mM) in oben angegebener Weise durchgeführt. Es zeigte sich eine lineare Beziehung zwischen Extinktion und eingesetzter Menge von Kynurenin bzw. Anthranilsäure (Abb. 4a + b).

Nach Papierchromatographie der gleichen Testlösungen und Farbreaktion am Eluat der ausgeschnittenen Flecken ergab sich ebenfalls eine lineare Beziehung zwischen Extinktion und eingesetzter Menge der Tryptophan-metaboliten (Abb. 5a + b); die Extinktionen waren jedoch kleiner als bei Farbreaktion mit entsprechenden Testlösungen ohne vorausgehende Chromatographie. Bei der Papierchromatographie treten offenbar Substanzverluste während der chromatographischen Wanderung auf. Bei jeder Urinanalyse wurden deshalb auf dem gleichen Chromatogramm je 0,1 ml einer 4 mM Kynurenin- und Anthranilsäure-Testlösung aufgetragen und unter streng identischen Bedingungen wie die Urinprobe chromatographiert und analysiert.

Der methodische Fehler bei der Bestimmung von Kynurenin beträgt $\pm 16,5\%$, bei Anthranilsäure $\pm 12,6\%$ des arithmetischen Mittelwertes.

Die Farbreaktionen nach OTANI und Mitarbeiter, sowie COPPINI und Mitarbeiter ergaben keine lineare Beziehung zwischen Extinktion und eingesetzter Substanzmenge bei der Bestimmung der beiden Tryptophanmetaboliten.

c) Bestimmung der 3-Hydroxy-Anthranilsäure:

3-Hydroxy-Anthranilsäure wurde nach der Chromatographie am wässrigen Eluat des ausgeschnittenen Fleckes mit einer Farbreaktion bestimmt, die von EDELBACHER und Mitarbeiter ursprünglich zur Histidinbestimmung angegeben wurde. Durch Kupplung mit p-Monochloranilin in Gegenwart von salpetriger Säure ergibt 3-Hydroxy-Anthranilsäure in gleicher Weise wie Histidin einen orange-roten Azofarbstoff, der eine photometrische Bestimmung von 3-Hydroxy-Anthranilsäure ermöglicht.

Durchführung:

Vom ausgeschnittenen und sorgfältig zerkleinerten Fleck des Chromatogramms wurde die 3-Hydroxy-Anthranilsäure 4 x 15 Minuten lang mit je 5 ml Wasser bei 50°C schrittweise eluiert, das Eluat bei 60°C im Vakuumrotationsverdampfer eingeeengt, und der Rückstand in 5 ml 0,53 %iger Natriumcarbonatlösung gelöst. Die in Lösung befindliche 3-Hydroxy-Anthranilsäure wurde anschließend in Eiswasser mit 0,05 ml 0,25 %igem p-Monochloranilin in Gegenwart von salpetriger Säure in einen Azofarb-

stoff übergeführt. Die Farbintensität der Lösung nimmt dabei in Abhängigkeit von der Reaktionszeit laufend zu (Abb. 6), die photometrischen Messungen wurden deshalb jeweils nach einer Reaktionszeit von 30 Minuten durchgeführt. Die Extinktionswerte wurden bei $490\text{ m}\mu$ (ZEISS Photometer ELKO III, Filter S49) gemessen.

Die Gültigkeit des LAMBERT-BEERSCHEN-Gesetzes bei der Farbreaktion wurde mit Testlösungen abgestufter Konzentration von 1 - 4 mMol 3-Hydroxy-Anthranilsäure pro Ansatz überprüft. In diesem Bereich besteht eine lineare Beziehung zwischen Extinktion und eingesetzter Menge an 3-Hydroxy-Anthranilsäure (Abb. 7). Auch nach Chromatographie, Elution und Farbreaktion am Eluat ist die Extinktion der eingesetzten Menge an 3-Hydroxy-Anthranilsäure proportional (Abb. 8). Es tritt aber wie bei der Chromatographie von Anthranilsäure und Kynurenin ein Substanzverlust auf, weshalb bei der Urinuntersuchung stets ein Vergleichschromatogramm mitlief, bei dem 0,1 ml der 4 mM Testlösung eingesetzt wurden. Die Fehlerbreite der Methode nach Chromatographie, Elution und Farbreaktion am Eluat beträgt $\pm 20,1\%$ des arithmetischen Mittelwertes.

Die Farbreaktionen der 3-Hydroxy-Anthranilsäure mit 2,6 Dichlorchinonimid (TOMPSETT) und mit diazotierter Sulfanilsäure (nach COPPINI und Mitarbeiter) erwiesen sich als ungeeignet für eine quantitative Bestimmung dieser Metaboliten.

3. Bestimmung der Xanthurensäure

Die Xanthurensäure wurde nach der Methode von WACHSTEIN und GUADITIS bestimmt. Bei pH 7,8 bildet Xanthurensäure mit Ferriamioniumsulfat einen Chelatkomplex mit einem Absorptionsmaximum bei $590\text{ m}\mu$.

Durchführung:

8 ml des gefilterten Urins wurden mit Wasser auf 10 ml aufgefüllt und mit 10 ml 0,4 molarem Puffer (Tris-hydroxymethyl-aminomethan + Maleinsäure + 1 n Natronlauge) gemischt. Hiervon wurden 10 ml für die Bestimmung des Leerwertes abpipettiert. Zu den restlichen 10 ml wurden 0,1 ml der 1,7 %igen Ferriamioniumsulfatlösung zugegeben. Die photo-

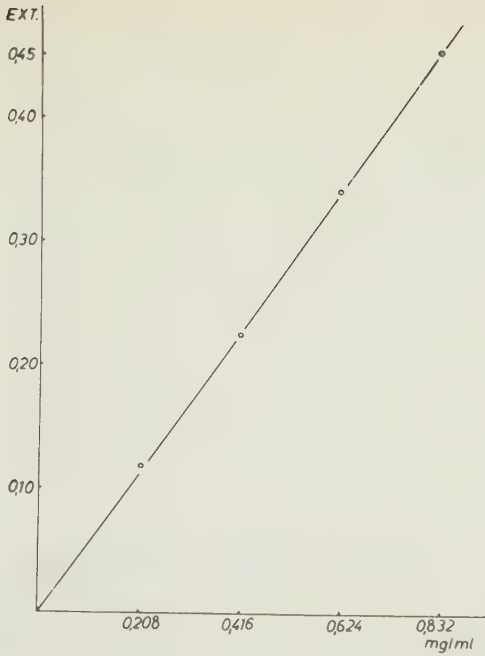


Abb. 4 a: Lineare Beziehung zwischen Extinktion (Ordinate) und eingesetzter Menge (Abszisse) an Anthranilsäure.

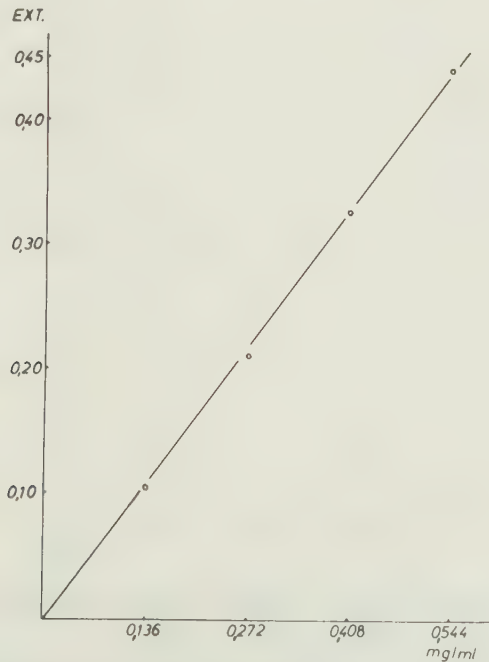


Abb. 4 b: Lineare Beziehung zwischen Extinktion (Ordinate) und eingesetzter Menge (Abszisse) an Kynurenin.

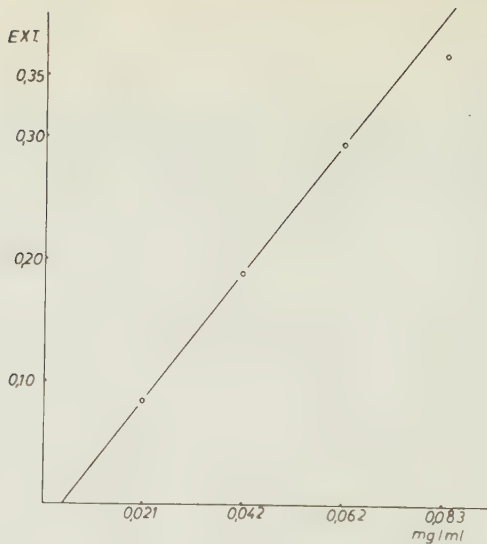


Abb. 5a: Farbreaktion am Eluat des ausgeschnittenen Fleckes nach chromatographischer Wanderung von Anthranilsäure.
Lineare Beziehung zwischen Extinktion und eingesetzter Menge des Metaboliten.

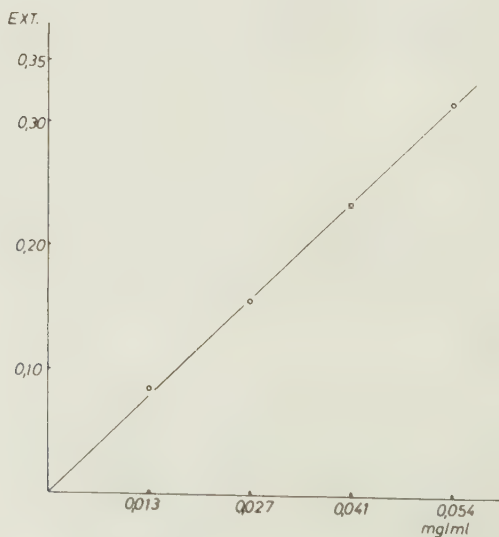


Abb. 5b: Farbreaktion am Eluat des ausgeschnittenen Fleckes nach chromatographischer Wanderung von Kynurenin.
Lineare Beziehung zwischen Extinktion und eingesetzter Menge des Metaboliten.

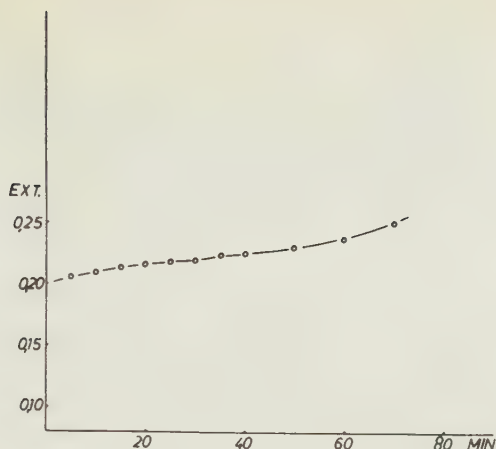


Abb. 6: Photometrische Bestimmung der 3-Hydroxy-Anthranilsäure durch Reaktion mit p-Monochloranilin in Gegenwart von salpetriger Säure. Zunahme der Extinktion in Abhängigkeit von der Reaktionszeit.

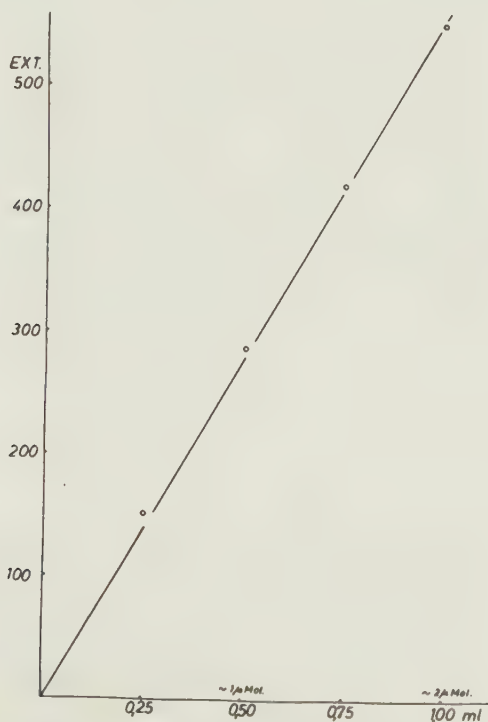


Abb. 7: Lineare Beziehung zwischen Extinktion und eingesetzter Menge von 3-Hydroxy-Anthranilsäure bei der Farbreaktion mit p-Monochloranilin in Gegenwart von salpetriger Säure.

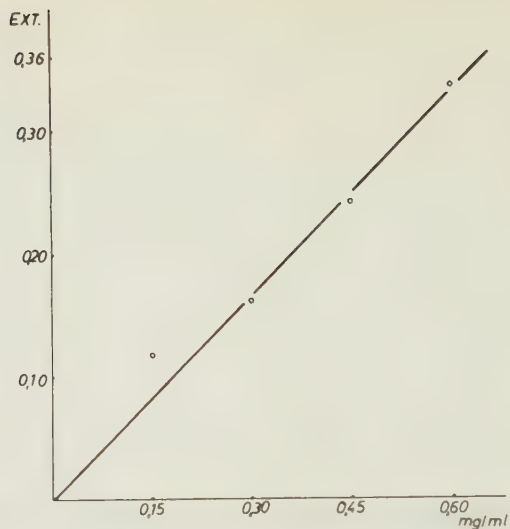


Abb. 8: Farbreaktion am Eluat des ausgeschnittenen Fleckes nach chromatographischer Wanderung von 3-Hydroxy-Anthranilsäure.



Abb. 9: Beziehung zur Extinktion (Ordinate) und eingesetzter Menge an Xanthurensäure (Abszisse).
Farbreaktion nach WACHSTEIN und GUADITIS.

metrische Bestimmung erfolgte nach 5 Minuten Reaktionszeit. Die an den Urinproben gemessenen Extinktionen wurden zur Extinktion nach Farb-reaktion an einer Testlösung mit 0,060 mg Xanthurensäure in Beziehung gesetzt; hieraus wurde die in der untersuchten Urinprobe enthaltene Menge an Xanthurensäure berechnet.

Überprüft wurde die Methode durch Farbreaktion mit Xanthurensäuretest-lösung in abgestufter Konzentration (0,012 mg - 0,060 mg/ml) (Abb. 9). In Übereinstimmung mit WACHSTEIN und GUADITIS; sowie MASKE zeigte sich, daß die Eichgerade nicht durch den Nullpunkt verläuft. Bei Konzentrationen über 0,012 mg Xanthurensäure besteht jedoch eine lineare Beziehung zwischen Extinktion und eingesetzter Xanthurensäuremenge. Der methodische Fehler beträgt + 9,2 % des arithmetischen Mittelwertes.

4. Schätzung des Bestimmungsfehlers

Bei den vorliegenden Versuchen wurden aus jeder Probe mehrere Bestimmungen durchgeführt, so daß eine Schätzung des Bestimmungsfehlers möglich ist. Als beste Schätzung des tatsächlichen Wertes ist der Mittelwert der Mehrfachbestimmungen anzusehen. Die Abweichungen von diesem Mittelwert ergeben ein Maß für die Größe des Bestimmungsfehlers. Es wird deshalb die Standardabweichung der Mehrfachbestimmungen berechnet. Für diese Berechnung können Mehrfachbestimmungen einer Probe als unabhängig angesehen werden. Bezeichnen wir mit Index i die einzelnen Proben, mit Index j die jeweiligen Bestimmungen, dann erhalten wir die Standardabweichung s nach folgender Formel

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{ij} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2}{\sum_i (n_i - 1)}}$$

wobei n_i die Anzahl der Mehrfachbestimmungen bei einer Probe darstellt.

Liegen nur Doppelbestimmungen vor, vereinfacht sich die Formel

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{ij} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2}{n}}$$

wobei n die Anzahl der Proben bezeichnet.

III. ERGEBNISSE

1. Gesunde Kontrollpersonen

Die Ausscheidung von Tryptophan, Gesamtindolen, Xanthurensäure, 3-Hydroxy-Anthranilsäure, Kynurenin und Anthranilsäure im 24-Stunden-Urin von 10 Gesunden ist in Tabelle 2 wiedergegeben.

2. Akute Hepatitis

Tabelle 3 zeigt die Ausscheidung dieser Substanzen im 24-Stunden-Urin bei 10 Kranken mit akuter Hepatitis. Die Ergebnisse von Leberfunktionsproben bei den untersuchten Kranken (Bilirubinkonzentration im Serum, Bromsulphaleintest, Serumgesamteiweiß, Elektrophorese der Serumproteine, sowie Aktivitäten der Glutamat-Oxalacetat- und der Glutamat-Pyruvat-Transaminase) sind in der Tabelle ebenfalls enthalten.

3. Chronische Hepatitis

Die Ausscheidung der Gesamtindole, des Tryptophans und der Tryptophan-metaboliten im 24-Stunden-Urin von 10 Kranken mit chronischer Hepatitis zeigt Tabelle 4. Die zur Sicherung der Diagnose durchgeführten Leberfunktionsproben, bei einigen Fällen auch die histologischen Diagnosen am Leberpunktat, sind ebenfalls in Tabelle 4 angeführt.

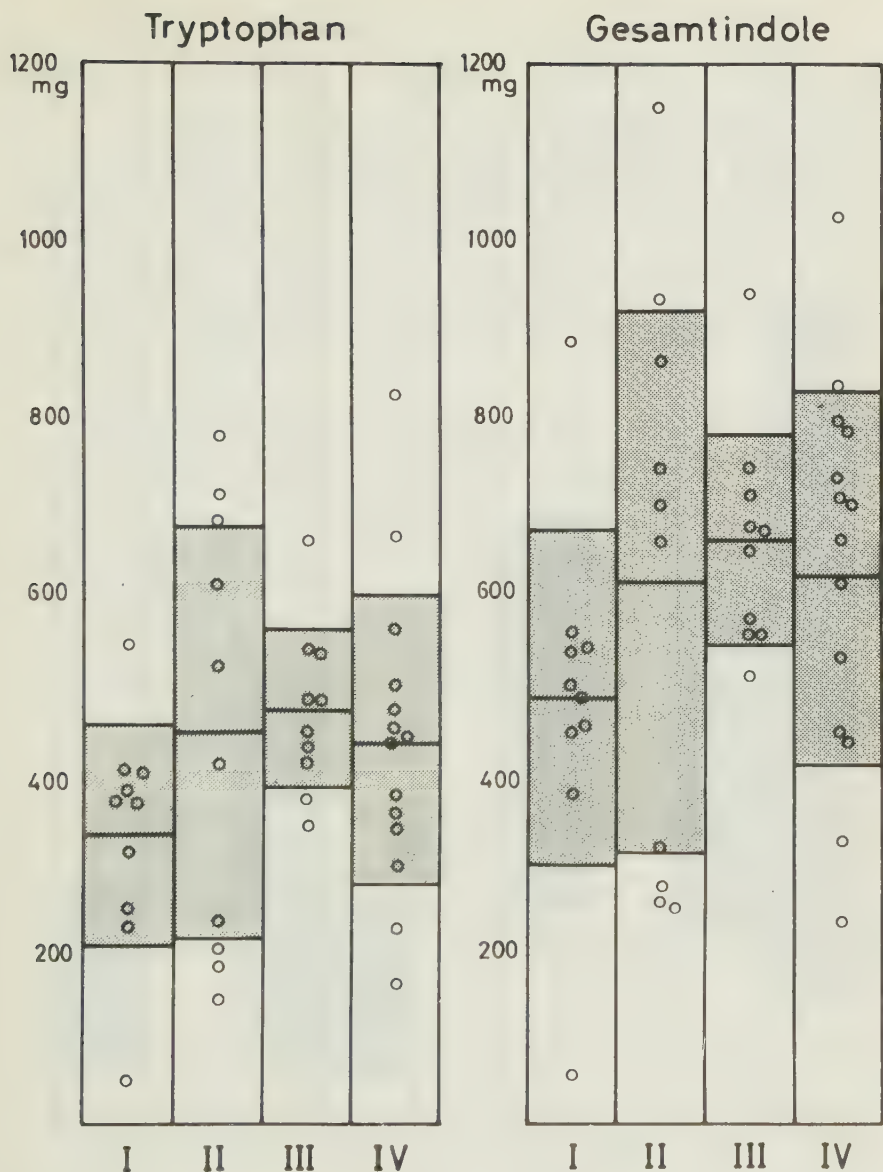
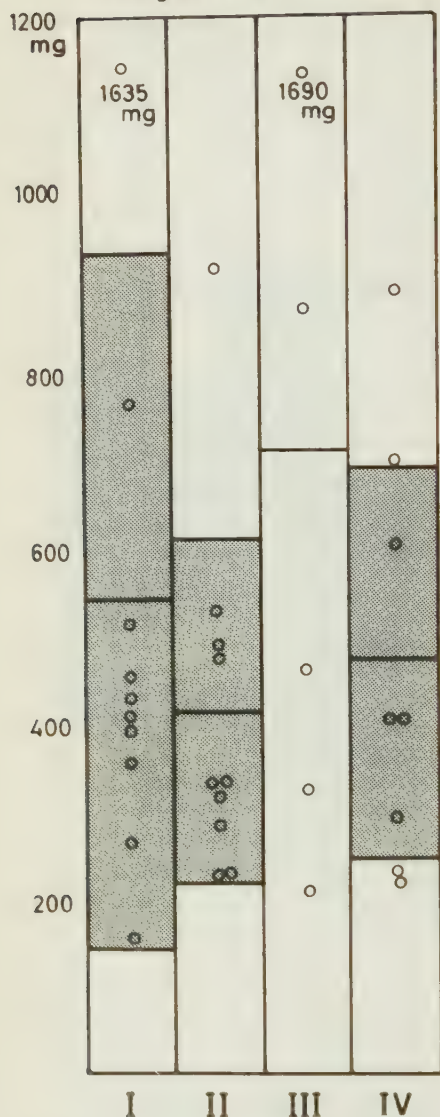


Abb. 10 a: Graphische Darstellung von Tryptophan und Gesamtindolen bei Gesunden (I.), akuter Hepatitis (II.), chronischer Hepatitis (III.) und Cirrhose (IV.). Der punktierte Bereich bezeichnet $\bar{x} \pm s\bar{x}$.

Oxyanthranilsre.



Xanthurensre.



Abb. 10b: Graphische Darstellung der Ausscheidung von 3-Hydroxy-Anthranilsäure und Xanthurensäure bei Gesunden (I.), akuter Hepatitis (II.), chronischer Hepatitis (III.) und Cirrhose (IV.). Der punktierte Bereich bezeichnet $\bar{x} \pm s\bar{x}$.

4. Lebercirrhose

Es wurden 14 Kranke mit Lebercirrhose untersucht. Tryptophan und Gesamtindole wurden in allen Fällen, die Tryptophanmetaboliten nur in einigen Fällen bestimmt. Eine Aufgliederung in verschiedene Cirrhoseformen wurde nicht durchgeführt. Die Ausscheidung von Gesamtindolen, Tryptophan und Tryptophanmetaboliten im 24-Stunden-Urin ist in Tabelle 5 + 6 angegeben. Außerdem sind entsprechend zu den Tabellen 3 und 4 die Ergebnisse von Leberfunktionsproben und die histologischen Befunde am Leberpunktat angegeben.

Bei jeder der genannten Krankheitsgruppen und bei der Kontrollgruppe gesunder Versuchspersonen ist für die Ausscheidung von Tryptophan, Gesamtindolen, Xanthurensäure und 3-Hydroxy-Anthranilsäure der Mittelwert ($\bar{x}$) und die Streuung des Mittelwertes ($\bar{sx}$) angegeben. Für die Ausscheidung von Kynurenin und Anthranilsäure ergibt sich eine große Streuung der Ausscheidungswerte innerhalb der einzelnen Krankheitsgruppen. Da der methodische Fehler bei Bestimmung dieser Substanzen im Vergleich zur Streuung der Werte sehr groß ist, und die Ausscheidung an der unteren Grenze der durch die Methode erfaßbaren Menge liegt, wurde auf die Angaben von Mittelwert und Streuung des Mittelwertes der Ausscheidung von Kynurenin und Anthranilsäure verzichtet.

Für Tryptophan, Gesamtindole, Xanthurensäure und 3-Hydroxy-Anthranilsäure sind die Einzelwerte, die bei Gesunden und den verschiedenen Leberkrankheiten bestimmt wurden, sowie Mittelwert und Streuung des Mittelwertes in Abb. 10 a + b graphisch dargestellt. In Tabelle 7 sind außerdem Mittelwert und Streuung des Mittelwertes gesondert aufgeführt.

Tabelle 7:

Ausscheidung von Tryptophan, Gesamtindolen und Tryptophanmetaboliten bei Gesunden und Leberkranken.

		n	$\bar{x}$	s $\bar{x}$
Normalfälle	Tryptophan	10	329,4	39,9
	Gesamtindole	10	483,1	60,3
	Xanthurensäure	10	16,0	3,0
	3-Hydroxy-Anthranilsäure	10	536,5	125,4
akute Hepatitis	Tryptophan	10	446,0	73,6
	Gesamtindole	10	614,1	97,7
	Xanthurensäure	10	27,8	6,2
	3-Hydroxy-Anthranilsäure	10	411,9	62,2
chron. Hepatitis	Tryptophan	10	470,3	28,7
	Gesamtindole	10	659,9	38,0
	Xanthurensäure	5	44,0	21,1
	3-Hydroxy-Anthranilsäure	5	709,8	240,7
Cirrhose	Tryptophan	14	431,4	44,3
	Gesamtindole	14	616,9	56,5
	Xanthurensäure	10	17,4	3,1
	3-Hydroxy-Anthranilsäure	8	466,8	79,3

Aus Tabelle 7 und Abbildung 10 geht hervor, daß die mittlere Ausscheidung von Tryptophan, Gesamtindolen, Xanthurensäure und 3-Hydroxy-Anthranilsäure bei den Leberkranken größer ist als bei Gesunden. Die Gruppe der Kranken mit chronischer Hepatitis weist die größte mittlere Ausscheidung auf. Die Prüfung auf Signifikanz mittels Varianzanalyse und DUCAN-Test zeigt jedoch, daß die Zunahme der mittleren Ausscheidung von Tryptophan, Gesamtindolen, Xanthurensäure und 3-Hydroxy-Anthranilsäure weder bei Kranken mit chronischer Hepatitis noch bei Kranken mit akuter Hepatitis oder Lebercirrhose im Vergleich zu Gesunden signifikant erhöht ist.

Anmerkung: Ich danke Herrn Dr. DUDECK (Institut für Medizinische Statistik an der Universität Mainz; Direktor Prof. Dr. S. KOLLER) für die statistische Prüfung der Ergebnisse.

IV. DISKUSSION

Der Abbau der Aminosäure Tryptophan vollzieht sich vorwiegend in der Leber, da in diesem Organ die Enzyme des Tryptophanabbaus, Tryptophan-peroxydase, Formamidase, Kynureninase und 3-Hydroxy-Anthranilsäureoxydase in hoher Aktivität vorhanden sind. Durch die vorliegende Arbeit sollte geprüft werden, ob eine Störung im Tryptophanabbau bei pathologischen Veränderungen des Leberparenchyms eintritt. Zur Klärung dieser Frage wurde die Ausscheidung von Tryptophan und seinen Metaboliten bei Gesunden und Kranken nach peroraler Gabe von 10 g Tryptophan im Urin gemessen. Durch die Belastung sollte die "funktionelle Reserve" des Organs voll ausgenutzt und ein "Anstau" von Metaboliten vor der gestörten Stoffwechselreaktion besonders deutlich gemacht werden.

Mit ähnlicher Versuchsanordnung wurden für andere Aminosäuren Störungen des intermediären Abbaus bei Lebererkrankungen nachgewiesen. So erbrachten Belastungstests mit Methionin (SCHREIER und SCHÖNSEE) den Nachweis einer Störung im Methioninstoffwechsel. Durch neuere Untersuchungen konnte diese Störung noch genauer definiert werden, insofern als bei Leberkranken, insbesondere bei Lebercirrhose, eine gesteigerte Oxydation des Methionins zu Methioninsulfoxyd und Methioninsulfon erfolgt, und Methionin überwiegend zu α -Aminobuttersäure abgebaut wird (GEROK). - Bestimmungen der am Harnstoffcyclus beteiligten Aminosäuren nach Arginin- "Belastung" zeigten, daß die Umwandlung von Citrullin in Arginin die limitierende Reaktion im Harnstoffcyclus ist; bei Lebererkrankungen ist diese Reaktion gestört, es kommt zum Anstau von Citrullin (GEROK; HOCHMILLER). Auch der Abbau der Aminosäure Histidin ist bei Lebererkrankungen gestört (BAUER; WILMES; GEROK). In neueren Untersuchungen mit Histidinbelastung konnte die Störung im Stoffwechselweg lokalisiert werden: Die Störung des Histidinabbaus beruht auf einer verminderten Aktivität des Enzyms, das die C_1 -Gruppe (Formiminogruppe) von Formiminoglutaminsäure auf Tetrahydrofolsäure überträgt (GEROK; BORNHÄUSER). Die nachgewiesenen Stoffwechselstörungen sind wahrscheinlich für die klinische Symptomatik der Leberkranken von wesentlicher Bedeutung.

Untersuchungen über die Ausscheidung von Tryptophan, Tryptophanmetaboliten und Indolderivaten sind bisher von HARTMANN und Mitarbeiter durchgeführt worden. Im Gegensatz zu den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit wurde hierbei die spontane Ausscheidung, d.h. ohne vorausgehende orale oder parenterale

Zufuhr von Tryptophan, gemessen. Ein weiterer Unterschied zu der vorliegenden Arbeit besteht in der angewandten Bestimmungsmethode, insofern, als die Indolderivate nach papierchromatographischer Trennung und Farbreaktion auf dem Chromatogramm durch Beurteilung der Fleckgröße und Farbinsintensität halbquantitativ bestimmt wurden. HARTMANN und Mitarbeiter fanden bei Leberkranken eine vermehrte Ausscheidung folgender Substanzen: Tryptophan, Acetyltryptophan, 4-Hydroxytryptamin, Indol-3-carbonsäure, Indolmilchsäure, Indolacrylsäure, Anthranilsäure, 3-Hydroxy-Anthranilsäure und einiger nicht identifizierter Indolderivate.

Die Untersuchungen, über die in der vorliegenden Arbeit berichtet wird, ergaben, daß die Ausscheidung von Tryptophan, Gesamtindolen, Xanthurensäure und 3-Hydroxy-Anthranilsäure nach oraler Gabe von 10 g L-Tryptophan bei Kranken mit akuter Hepatitis, chronischer Hepatitis oder Lebercirrhose im Vergleich zu Gesunden nicht signifikant erhöht ist. Kynurenin und Anthranilsäure werden auch nach Tryptophan-"Belastung" nur in geringer Menge ausgeschieden, die Urinkonzentration dieser beiden Tryptophanmetaboliten liegt an der Empfindlichkeitsgrenze der Bestimmungsmethoden. Der methodische Fehler ist in diesem Bereich in Relation zur Streuung groß. Gesicherte Angaben über die Ausscheidung von Kynurenin und Anthranilsäure bei Leberkranken sind deshalb nach den vorliegenden Untersuchungen nicht möglich. Die Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß die Aktivität der Tryptophanperoxydase und Kynurenin-formamidase bei Erkrankungen der Leber nicht wesentlich vermindert ist. Bei einer deutlichen Aktivitätsabnahme dieser Enzyme wäre eine Zunahme des Tryptophans oder - bei kompensatorisch gesteigertem Abbau des Tryptophans durch oxydative Desaminierung oder Transaminierung - eine Zunahme der Gesamtindole, sowie eine Abnahme von Kynurenin zu erwarten. - Auch die Spaltung des 3-Hydroxykynurenins in 3-Hydroxy-Anthranilsäure und Alanin ist bei den Leberkranken offenbar nicht gestört, da die Ausscheidung des 3-Hydroxykynurenins im Vergleich zu Gesunden nicht signifikant verändert ist. - Die Untersuchungen zeigen ferner, daß kein absoluter oder relativer Mangel an Pyridoxalphosphat (Vitamin B₆) vorliegt. Beim Vitamin B₆-Mangel ist die Ausscheidung der Xanthurensäure gesteigert (Lit. s. b. MASKE), während bei den von uns untersuchten Kranken mit akuter Hepatitis, chronischer Hepatitis und Lebercirrhose keine signifikante Zunahme der Xanthurensäureausscheidung nachweisbar war.

Die Untersuchungen geben somit keinen Hinweis für eine Störung im Tryptophanstoffwechsel bei Leberkranken. Auch unter oraler "Belastung" mit 10 g L-Tryptophan ist die Ausscheidung von Tryptophan und einigen Metaboliten des Tryptophanabbaus bei Leberkranken im Vergleich zu Gesunden nicht signifikant verändert; der Tryptophanabbau ist bei den Kranken mit akuter Hepatitis, chronischer Hepatitis oder Lebercirrhose nicht vermindert oder blockiert. Damit steht in Übereinstimmung, daß nach neueren Untersuchungen (GABUZDA und DAVIDSON) die Ausscheidung von N-Methyl-Nikotinsäureamid bei Kranken mit Lebercirrhose im Vergleich zu Gesunden nicht reduziert, sondern sogar noch gesteigert ist. Störungen des Aminosäurenabbaus, wie sie für einzelne Aminosäuren (Histidin, Methionin, Citrullin) bei Leberkrankheiten nachgewiesen und durch "Anstau" bestimmter Metaboliten im Stoffwechselweg lokalisiert werden konnten, treten bei der Aminosäure Tryptophan nicht auf.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Durch die vorliegenden Untersuchungen sollte geprüft werden, ob bei Erkrankungen der Leber - akute Hepatitis, chronische Hepatitis, Lebercirrhose - eine Störung im Stoffwechsel des Tryptophans nachweisbar ist. Zur Klärung dieser Frage werden Gesamtindole, Tryptophan, 3-Hydroxy-Anthranilsäure und Xanthurensäure nach oraler Gabe von 10 g L-Tryptophan im 24-Stunden-Urin quantitativ bestimmt. Außerdem werden Kynurenin und Anthranilsäure halbquantitativ erfaßt. Durch die orale Tryptophan-"Belastung" soll die "funktionelle Reserve" des Organs voll beansprucht und ein "Anstau" von Metaboliten besonders deutlich gemacht werden.
2. Die Untersuchungen werden bei 10 Gesunden, je 10 Kranken mit akuter und chronischer Hepatitis und bei 14 Kranken mit Lebercirrhose durchgeführt.
3. Ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Tryptophanmetaboliten Kynurenin, 3-Hydroxy-Anthranilsäure und Anthranilsäure wird ausgearbeitet. Der Urin wird hierbei zunächst einer 1-dimensionalen Papierchromatographie unterworfen. Am Eluat der getrennten, im UV-Licht lokalisierten und ausgeschnittenen Flecken werden Kynurenin, Anthranilsäure und

3-Hydroxy-Anthranilsäure durch Farbreaktion nach BRATTON und MARSHALL bzw. Farbreaktion mit p-Chloranilin bestimmt. Einzelheiten der Methode, methodischer Fehler und Vorzüge im Vergleich zu anderen in der Literatur mitgeteilten und von uns geprüften Bestimmungsmethoden werden mitgeteilt. Gesamtindole werden am Nativurin, Tryptophan am ätherextrahierten Urin nach SPIES und CHAMBERS photometrisch bestimmt. Quantitative Bestimmung der Xanthurensäure nach WACHSTEIN und GUADITIS.

4. Bei Kranken mit akuter Hepatitis, chronischer Hepatitis oder Lebercirrhose ist die Ausscheidung von Gesamtindolen, Tryptophan, 3-Hydroxy-Anthranilsäure und Xanthurensäure nach oraler Gabe von 10 g L-Tryptophan im Vergleich zu Gesunden nicht signifikant verändert. Für Kynurenin und Anthranilsäure ergeben die halbquantitativen Analysen ebenfalls keine Hinweise für eine Änderung der Ausscheidung bei Leberkranken.
5. Nach diesen Befunden liegt keine Störung des Tryptophanabbaus bei den untersuchten Leberkrankheiten vor.

Nr.	Name	Diagnose	Histolog. Befund	Bromth. - T.	Bilirubin	Eiweißbild	Tryptophan mg/die	Tryptophan + Indol derivative mg/die	(="Gesamtindole")	Xanthurensäure mg/die	3-Hydroxy- Anthransäure mg/die	Kynurenin mg/die	Anthransäure mg/die
1	Sch.	Normalfall	-	-	-	-	52	60		6	766	11	5
2	Sch.	"	-	-	-	-	223	444		7	156	59	29
3	Bos.	"	-	-	-	-	402	498		12	356	152	33
4	Bär.	"	-	-	-	-	382	481		40	385	191	68
5	Rei.	"	-	-	-	-	544	880		20	453	85	0
6	Wro.	"	-	-	-	-	398	534		19	428	60	0
7	Pet.	"	-	-	-	-	239	376		7	263	45	21
8	Thi.	"	-	-	-	-	378	561		16	1635	96	26
9	Oep.	"	-	-	-	-	311	544		20	409	161	37
10	Her.	"	-	-	-	-	365	453		23	514	265	25
			$\bar{x}$	=	M =		329,4	483,1		16,0	536,5		
			$s_{\bar{x}}$	=	$\pm \sigma$ M =		39,9	60,3		3,0	125,4		

(0: Ausscheidung mit der angewandten Methode nicht meßbar)

(-: keine Bestimmung)

Tabelle 2:

Ausscheidung von Tryptophan, Gesamtindolen und Tryptophanmetaboliten bei 10 Gesunden.

Nr.	Name	Diagnose	Histolog.Befund	Bromth.-T.	Billirubin	Eiweißbild	SGOT	SGPT	Tryptophan mg/die	Tryptophan + Indolderivate (="Gesamtindole") mg/die	Xanthurensäure mg/die	3-Hydroxy- Anthraniensäure mg/die	Kynurenin mg/die	Anthraniensäure mg/die
11	Pfe.	akute Hep.	-	-	14,4 mg %	-	1600E	1383E	179	257	38	488	217	21
12	Hap.	"	-	-	12,0 mg %	8,2-54,4-6,5-	850E	773E	229	311	50	471	231	59
13	Jun.	"	-	-	7,0 mg %	8,5-12,5-18,5	146E	504E	518	745	11	225	260	40
14	Bal.	"	-	-	4,4 mg %	7,5-11,5-30,0	140E	470E	200	248	73	278	109	0
15	Mäh.	"	-	-	10,1 mg %	7,8-50,0-6,5-	150E	510E	612	704	18	332	168	20
16	Feu.	"	Hep. acuta	-	1,8 mg %	11,0-13,5-19	126E	346E	714	1155	14	916	27	11
17	Rei.	"	-	-	1,2 mg %	7,6-49,5-6-	103E	268E	679	929	18	319	129	12
18	Kos.	"	-	2 %	3,8 mg %	9-13-22,5	46E	126E	778	862	17	530	22	0
19	Sch.	"	-	-	1,6 mg %	7,5-55,0-5,5-	31E	122E	407	660	32	335	412	35
20	Sch.	"	-	-	4,4 mg %	7-14-18,5	27E	26E	144	270	7	225	104	24
					$\bar{x} =$	$M =$			446,0	614,1	27,8	411,9		
					$s_{\bar{x}} = \pm$	$\sigma M =$			73,6	97,7	6,2	62,2		

(0 : Ausscheidung mit der angewandten Methode nicht meßbar)

(- : keine Bestimmung)

Tabelle 3 :

Leberfunktionsproben, sowie Ausscheidung von Tryptophan, Gesamtindolen und Tryptophanmetaboliten bei 10 Kranken mit akuter Hepatitis.

N ₁ Tryptophan g/die	Tryptophan + Indolderivate (="Gesamtindole") mg/die	Xanthurensäure mg/die	3-Hydroxy- Anthranilsäure mg/die	Kynurenin mg/die	Anthranilsäure mg/die
21 ₂	576	23	872	213	34
22 ₃	565	-	-	-	-
23 ₀	650	137	1690	2190	45
24 ₅	945	33	322	304	17
25 ₅	675	19	458	117	25
26 ₁	713	8	207	123	58
27 ₀	554	-	-	-	-
28 ₀	676	-	-	-	-
29 ₀	504	-	-	-	-
30 ₇	741	-	-	-	-
0,3	659,9	44,0	709,8		
8,7	38,0	21,1	240,7		

(- :

T a

Leben bei 10 Kranken mit chronischer Hepatitis.

Nr.	Name	Diagnose	Histolog. Befund	Bromth. - T.	Bilirubin	Eiweißbild	SGOT	SGPT	Tryptophan mg/die	Tryptophan + Indolderivate mg/die (="Gesamtindole")	Xanthurensäure mg/die	3-Hydroxy- Anthransäure mg/die	Kynurenin mg/die	Anthransäure mg/die
31	Kra.	Cirrhose	-	-	2,0 mg %	10,4-35,5-5,0- 6,5-12,0-41,0	27E	46E	472	713	25	693	0	0
32	Nar.	"	Cirrhose	35 %	0,4 mg %	8,8-28,5-6,0- 8,5-16,5-40,5	142E	83E	666	796	5	600	19	19
33	Wil.	"	-	31 %	2,4 mg %	6,4-41,5-5,5- 8,5-12-32,5	99E	51E	450	660	13	230	0	0
34	Eic.	"	Cirrhose	34 %	1,2 mg %	7,0-46-3- 6-12-33	15E	11E	374	739	8	401	0	0
35	Tric.	"	Cirrhose	28 %	1,2 mg %	6,6-47,0-4,0- 6,0-13,0-30,0	44E	23E	832	1030	14	-	-	-
36	Löc.	"	-	42 %	3,2 mg %	7,4-36,0-6,0- 13,5-16,5-28,0	70E	55E	433	531	-	-	-	-
37	Sch.	"	-	-	3,0 mg %	7,4-50,5-5,5- 7,0-10,5-26,5	97E	137E	338	442	17	403	146	14
38	Stä.	"	-	17 %	1,1 mg %	7,1-38-10- 12-12-28	12E	11E	289	431	-	-	-	-
39	Sch.	"	-	1 %	1,0 mg %	7,7-48,0-5,0- 9,5-13,5-24,0	16E	20E	494	836	27	891	5	4
40	Tsc.	"	-	23 %	1,3 mg %	7,5-42,0-7,0- 8,5-19,0-23,5	28E	13E	347	504	-	-	-	-

(Fortsetzung Seite 24)

Nr.	Name	tryptophan + Indolderivate (= "Gesamtindole") mg/die	Xanthurensäure mg/die	3-Hydroxy- Anthraniisäure mg/die	Kynurenin mg/die	Anthraniisäure mg/die
41	Bon.	233	4	223	0	0
42	Klö.	618	-	-	-	-
43	Kai.	319	26	293	0	0
44	Fie.	784	35	-	-	-
		616,9	17,4	466,8		
		56,5	3,1	79,3		

(0 : Aussche

(- : keine B

Tabelle 5

Leberfunktionskenn mit Lebercirrhose.

VI. LITERATUR

- ALBANESE, A.A. und J.E. FRANKSTON,
J. Biol. Chem. 157, 59 (1945)
- BAUR, H.,
Ztschr. exp. Med. 119, 143 (1951)
- BORNHÄUSER, P.,
Inaugural-Diss. in Vorbereitung
- BRATTON, A.C. und E.K. MARSHALL,
J. Biol. Chem. 128, 537 (1939)
- CHARCONNET-HARDING, F., C.E. DALGLIESH und A. NEUBERGER,
Biochem. J. 53, 513 (1953)
- CLARK, C.T., H. WEISSBACH und S. UDENFRIEND,
J. Biol. Chem. 210, 139 (1954)
- COPPINI, D., C.A. BENASSI und M. MONTORSI,
Clin. Chem. 5, 391 (1959)
- DALGLIESH, C.E.,
Biochem. 61, 328, 334 (1955)
- DALGLIESH, C.E., W.E. KNOX und A. NEUBERGER,
Nature 168, 20 (1951)
- EDELBACHER, S., H. BAUR, H.R. STAEHELIN und A. ZELLER,
Ztschr. physiol. Chem. 270, 158 (1941)
- GABUZDA, G.F. und CH. S. DAVIDSON,
Amer. J. Clin. Nutrition 11, 502 (1962)
- GEROK, W.,
unveröffentlicht

- GEROK, W.,
Dtsch. med. Wschr. 88, 1188 (1963)
- GEROK, W.,
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 68, 523 (1962)
- GEROK, W.,
Ztschr. physiol. Chem. 229, 112 (1955)
- GESCHWIND, I.I. und C.H. LI,
Nature 172, 732 (1953)
- HARTMANN, F., E. FREIBERG und W. RUGE,
Klin. Wschr. 40, 721 (1962)
- HENDERSON, L.M., R.E. KOSKI und F. D'ANGELI,
J. Biol. Chem. 215, 369 (1955)
- HOCHMILLER, R.,
Inaugural Diss. in Vorbereitung
- ISLER, P. und CH. HEDINGER,
Schweiz. med. Wschr. 1953, 4
- JACOBY, W.B. und D.M. BONNER,
J. Biol. Chem. 205, 709 (1953)
- KNOX, W.E.,
Biochem. J. 53, 379 (1953)
- KNOX, W.E. und V.H. AUERBACH,
J. Biol. Chem. 214, 307 (1955)
- KNOX, W.E.,
Biochem. et Biophys. Acta 14, 117 (1954)
- KNOX, W.E. und A.H. MEHLER,
Science 113, 237 (1951)

- KNOX, W.E. und A.H. MEHLER,
J. Biol. Chem. 187, 419 (1950)
- KOTAKE, Y., M. CHIKANO und K. ICHIHARA,
Ztschr. physiol. Chem. 143, 218 (1925)
- KOFRANYI, E.,
Ztschr. physiol. Chem. 299, 129 (1955)
- KREHL, W.A., L.J. TEPLY, P.S. SARMA und C.A. ELVEHJEM,
Science 101, 489 (1945)
J. Nutrition 31, 85 (1946)
- LEE, N.D. und R.H. WILLIAMS,
Biochim. et Biophys. Acta 9, 698 (1952)
J. Biol. Chem. 204, 477 (1953)
- LEMBECK, F.,
Nature 172, 910 (1953)
- MASKE, H.,
Klin. Wschr., 40, 561 (1957)
- MASON, M.,
J. Biol. Chem. 201, 513 (1953)
- MASON, M. und C.P. BERG,
J. Biol. Chem. 195, 515 (1952)
- MEHLER, A.H. und W.E. KNOX,
J. Biol. Chem. 187, 431 (1950)
- MEISTER, A.,
Biochemistry of the amino acids.
Academic Press New York 1957
- MILLER, I.L., M. TSUCHIDA und E.A. ADELBURG,
J. Biol. Chem. 203, 205 (1953)

- OTANI, S.O., N. NISHINO und K.IMAL,
Z. physiol. Chem. 270, 60 (1941)
- RAPPORT, M.M., A.A. GREEN und I.H. PAGE,
J. Biol. Chem. 174, 735 (1948)
176, 1237, 1243 (1948)
- RESSEL, K.,
Ztschr. ges. Inn. Med. 15, 203 (1960)
- SPIES, I.R.,
Anal. Chem. 22, 1447 (1950)
- SPIES, I.R. und D.C. CHAMBERS,
Anal. Chem. 20, 30 (1948)
21, 1249 (1949)
- SCHREIER, K. und H. SCHÖNSEE,
Dtsch. med. Wschr. 77, 418 (1952)
- TOMPSETT, S.L.,
Clin. Chim. Acta 4, 411 (1959)
- UDENFRIEND, S., C.T. CLARK und E.TITUS,
J. Am. Chem. Soc. 75, 501 (1953)
- WACHSTEIN, M., A. GUADITIS,
Am. J. of Clin. Path. 22, 652 (1952)
- WALDENSTRÖM, J. und E. LJUNGBERG,
Svenska läkartidn 50, 690 (1953)
Acta Endocrin. 17, 432 (1954)
- WILMES, CH.,
Inaugural Diss. Marburg 1960
- WISS, O.,
Z. Naturforsch. 76, 133 (1952)

WISS, O.,

Helv. Chim. Acta 32, 1694 (1949)

WISS, O. und F. HATZ,

Helv. Chim. Acta 32, 532 (1949)

WISS, O. und H. FUCHS,

Helv. Chim. Acta 32, 2553 (1949)

LEBENS LAUF

Am 10. September 1939 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Dr. Paul Bose und seiner Ehefrau Charlotte, geborene Koch, aus Bleicherode am Harz, beide deutscher Staatsangehörigkeit, in Erfurt geboren.

Von 1945 bis 1953 besuchte ich in Bleicherode am Harz die Volksschule, im Anschluß daran am gleichen Ort die Max-Planck-Oberschule, an der ich im Mai 1957 das Abitur ablegte. Da mir in der SBZ das Hochschulstudium verwehrt wurde, verlegte ich am 10. September 1957 meinen Wohnsitz in die Bundesrepublik Deutschland. Nach dem Besuch eines Ergänzungslehrganges für Abiturienten aus Mitteldeutschland wiederholte ich im März 1958 an der Wilhelmschule in Kassel das Abitur. Das Medizinstudium begann ich im Mai 1958 an der Philipps-Universität in Marburg/Lahn und bestand dort im April 1959 den I. Abschnitt der ärztlichen Vorprüfung. Daran anschließend setzte ich das Studium an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen fort und unterzog mich dort im Februar 1961 erfolgreich dem II. Teil der ärztlichen Vorprüfung. Zum Studium der klinischen Fächer kehrte ich nach Marburg zurück und legte hier im Jahre 1964 das medizinische Staatsexamen ab. Am 1. Oktober 1964 begann ich meine Medizinalassistententätigkeit am St. Josefs-Hospital in Wiesbaden. Hier arbeitete ich zunächst 9 Monate auf der chirurgischen Abteilung, danach 6 Monate an der Frauenklinik des Hauses. Seit dem 1. Januar 1966 bin ich ebenfalls als Medizinalassistent an der Medizinischen Klinik des St. Josefs-Hospitals in Wiesbaden tätig.

